

**チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性及び除草剤グリホサート耐性ワタ
(*cry1F*, *cry1Ac*, *pat*, *cp4 epsps*, *Gossypium hirsutum* L.)(281 × 3006 × 1445, OECD UI :
DAS-24236-5 × DAS-21023-5 × MON-01445-2) 申請書等の概要**

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書の概要	
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	2
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	2
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	2
(2) 使用等の歴史及び現状.....	3
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	4
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	7
(1) 供与核酸に関する情報.....	7
(2) ベクターに関する情報.....	12
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	12
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性	19
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性.....	24
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	24
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	27
(1) 使用等の内容	27
(2) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	27
(3) 国外における使用等に関する情報	27
第二 項目毎の生物多様性影響の評価.....	30
1 競合における優位性.....	30
2 有害物質の産生性	31
3 交雑性	33
第三 生物多様性影響の総合的評価	34
参考文献	36
緊急措置計画書	38

第一種使用規程承認申請書

平成 17 年 11 月 25 日

農林水産大臣 中川 昭一 殿
環境大臣 小池百合子 殿

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 モンティール・ベイヤー
申請者 印
住所 東京都品川区東品川 2 丁目 2 番 24 号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性及び除草剤グリホサート耐性ワタ (<i>cry1F</i> , <i>cry1Ac</i> , <i>pat</i> , <i>cp4 epsps</i> , <i>Gossypium hirsutum</i> L.) (281 × 3006 × 1445, OECD UI : DAS-24236-5 × DAS-21023-5 × MON-01445-2)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

イ 和名、英名及び学名

和名：ワタ、英名：Cotton、学名：*Gossypium hirsutum* L.、科名：アオイ科 (*Malvaceae*)

ロ 宿主の品種名又は系統名

チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性及び除草剤グリホサート耐性ワタ (*cry1F*, *cry1Ac*, *pat*, *cp4 epsps*, *Gossypium hirsutum* L.) (281 × 3006 × 1445, OECD UI : DAS-24236-5 × DAS-21023-5 × MON-01445-2) (以下「本スタック系統ワタ」と呼ぶ) は、チョウ目害虫抵抗性遺伝子改変型 *cry1F* と除草剤グルホシネート耐性遺伝子 *pat* を挿入したワタ281 (以下「ワタ281」と呼ぶ) とチョウ目害虫抵抗性遺伝子改変型 *cry1Ac* と除草剤グルホシネート耐性遺伝子 *pat* を挿入したワタ3006 (以下「ワタ3006」と呼ぶ) を従来育種法により掛け合わせることで作出されたチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性ワタ (*cry1F*, *cry1Ac*, *pat*, *G. hirsutum* L.) (281 × 3006, OECD UI : DAS-24236-5 × DAS-21023-5) (以下「ワタ281/3006」と呼ぶ) と除草剤グリホサート耐性ワタ (*cp4 epsps*, *G. hirsutum* L.) (1445, OECD UI : MON-01445-2) (以下「ワタ1445」と呼ぶ) を従来育種法により掛け合わせることで作出された。親系統であるワタ281及びワタ3006の宿主には実験用ワタGC510系統を使用し、ワタ1445の宿主には品種Coker312を使用した。

八 国内及び国外の自然環境における自生地域

G. hirsutum 及び *Gossypium* 属植物と交雑可能な近縁野生種は、我が国の自然環境には分布しない。

一方、国外において、*Gossypium* 属の野生種は、熱帯及び亜熱帯の乾燥地域に分布しており、野生種二倍体は地理的分布から、オーストラリア群 (11種)、アフリカ・アラビア群 (8種) 及びアメリカ群 (12種) の三群に分けられる (Fryxell 1984)。また、野生種四倍体の分布地域としては、*G. tomentosum* (ハワイ)、*G. mustelinum* (ブラジル北西部)、*G. darwinii* (ガラパゴス諸島)、*G. lanceolatum* (メキシコ)、*G. barbadense* (アンチル諸島、中南米、ガラパゴス諸島) がある。さらに、*G. hirsutum* は、野生種あるいは栽培種として中米、アン

チル諸島、南米北部、フロリダの南端、ポリネシア、北アフリカ及び南アジアに分布する。また、栽培種二倍体としてアジアワタと呼ばれる *G. arboreum* と *G. herbaceum* が知られている (Fryxell 1984, Lee 1984)。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史

日本へのワタの伝播は古く、799年に三河国に漂着したインド人によって伝えられたことが記録に残っているが、このワタはすぐに消滅したと考えられている。その後、文禄年間(1592～1595年)に再び九州に伝えられ、明治15～20年には関東以南を中心に100,000haに栽培されていた。しかし、輸入ワタに圧迫された結果、現在では観賞用にわずかに栽培されているにすぎない。なお、日本で栽培されていたのはアジアワタ(二倍体、*G. arboreum*)と考えられている。一方、世界的に見れば、ワタは東アフリカを起源とし、原始的な栽培は5000年前に現在のパキスタン周辺で始まったと考えられている。17世紀には、米国南部でワタの栽培が始まり、19世紀には、ワタの最大供給源となった (Cotton Australia 2005)。

ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

ワタは世界の約90カ国で栽培され、2004年度の総生産は2,600万トンと推計されている。最大生産国は中国(24%)、ついで米国(19%)、インド(15%)、パキスタン(9%)、ブラジル(5%)、ウズベキスタン(4%) の順である (National Cotton Council 2005)。

栽培方法については、我が国のように温度が不足するところで栽培するときには、生長を抑制して成熟を促進するとともにさく(果実)の数を制限するために摘心・摘果を行うのが通例である。摘心時期は早すぎると枝の発生及び発育が旺盛になり、遅すぎると成熟が遅れるので、その時期は難しいが、我が国では7月下旬～8月上旬ごろの結果枝が10～12段くらいになった頃が適当だといわれている。また、さく数については、結果枝当たり下方では2ヶ、上方では1ヶ程度に摘果するのが通例となっている(「農学大事典」養賢堂)。一方、国外においては、国や地域によりその詳細な栽培方法が異なるが、以下近代農法に共通する点をまとめる。ほ場は耕起し、畝立てを行い、春先に地温が14℃まで上昇した時期に十分な土壤水分含量を確認した上で播種が行われる。種子は数日で発芽するが、その後適宜、灌水、施肥、病害虫防除などの一般管理を行う。発芽後から平均180日でワタのさくは成熟する。さくの成熟を確認した上で落葉剤を散布し、大部分の葉が枯れ落ちたことを確認したのち、機

械による収穫を行う（Cotton Australia 2003）。ワタは、種子上皮から発達した綿毛が刈り取られて繊維として衣服の原料になるほか、短毛（リントー）は化学製品の原料として利用される。子実（種子）は家畜の飼料や搾油用に供され、綿実かすは家畜の飼料として利用されている。

我が国におけるワタ種子の輸入量（2002年）は、約15万トンであり、そのうち約12万トンが飼料用として使用されている（FAO 2004）。また、2002年には、約22,000トンの綿実油が輸入されている（FAO 2004）。さらに、2004年に6,100トンの綿実かすが家畜の飼料として輸入されている（財務省 輸入統計 2005）。2002年に輸入された栽培用種子は約200kgで、そのほとんどが米国から輸入されており、観賞用として栽培されている。この栽培用種子は米国の種子会社が非遺伝子組換えワタ品種を特定して栽培し、遺伝子組換えワタ種子の混入がないように分別した上で輸入しているとのことである。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ワタは種子繁殖するアオイ科に属する植物であり、熱帯では多年生であるが、温帯では一年生である（学研学習事典データベース 1999）。日本の気候では、冬季の気温が低いため多年生となるケースは稀であり、ほとんどが一年生と考えてよい。草丈は90～190cm（Cotton Australia 2003）で、葉は互生である。第3葉までは心臓形をしているが完全な本葉は5片である。花は葉と対生し総包は心臓形の3片からなり、がくは盃状に花冠の基部を包み、上縁は浅く5分する（「農学大事典」養賢堂）。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

土壌は排水良好な砂質壤土に適し、アルカリ土壌に強く酸性を嫌う。ワタの発芽には最低12℃を必要とし、20～28℃で活発に生育する。生育には年1,000～1,500mmの降水量を必要とする（「農学大事典」養賢堂）。なお、米国では、1シーズン中に最低500mmの雨量、温度15℃以上の日が160日以上ある北緯37度以下の地域で生育可能である。また、ヨーロッパや中国では北緯42度以上でも生育可能である（Waddle 1984）。

八 繁殖又は増殖の様式

種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

ワタのさくは長径23～43mmの球形ないし長円形で先端が尖っている。開花後30日程度で最大に達し、40～60日までに成熟し、その後開裂する。さくは3～5室からなり、各室6～10個の種子を形成する。種子はその表皮細胞が発達した綿毛で覆われているため、脱粒性は低く、風や鳥、動物等の媒介による種子の拡散も起こらない。ワタの種子は休眠性が極めて浅く、土壤中で湿度や温度（14℃以上）など一定の条件が揃えば発芽する（OGTR 2002）。Eastick (2002)によるオーストラリアでの実験では、リントが残っている綿実には、発芽に好適な環境条件下においても発芽率は比較的低く（40%）、綿実を地表に放置した場合の発芽率は20%程度であった。乾期の土壤中に播種した場合、綿実の発芽率は3ヵ月後に10%、5ヵ月後にほぼ0%となり、長期間生存しないことが示されている。

栄養繁殖の様式並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性

ワタは種子繁殖であり、塊茎や地下茎などによる栄養繁殖はしない。また、ワタには、自然条件において植物体を再生しうる組織等がある、あるいはそこから発芽するというような報告はない。

自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

ワタは基本的には自家受粉であるが、虫媒等で他家受粉が生じる場合がある。なお、我が国においてワタと交雑可能な近縁野生種は知られていない。種子は受精によって作られ、アポミクシスは生じない。

花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ワタの花は1葯当たり600個程度の花粉が詰まった約65本の葯を持つ。ワタの花粉は黄色の球形で多くの突起がある。花粉の発芽率は葯から放出された直後は56%であり、その寿命は約12時間であることが報告されている（Govila and Rao 1969）。ワタの花粉は他の花粉と比べて重く、粘性が高いため、自然条件下で風に運ばれることはほとんどない。米国及びオーストラリアの研究機関の行った調査によれば、ワタの花粉は20m以上風で移動することはほとんどないことが報告されている（Umbeck *et al.* 1991）。なお、マルハナバチ (*Bombus* sp.) やミツバチの一種 (*Apis mellifera*) 等が花粉を媒介することがある。

二 有害物質の産生性

他感作用物質のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

ホ その他の情報

ワタにはゴッシポールとシクロプロペン脂肪酸が含まれていることが知られている。ゴッシポールには遊離型と結合型があるが、遊離型ゴッシポールが生理活性をもつ。ゴッシポールは単胃動物（家禽類、豚等）に対して致死毒性があるため、単胃動物には綿実とは与えられない。一方、反芻動物では反芻胃においてゴッシポールを無毒化することができるが、大量の綿実を与えると害を及ぼすことがあるため、成牛の場合、綿実の摂食許容量は体重の0.5%とされており、反芻胃が発達するまで綿実とは与えられない。さらに、ゴッシポールは雄の抗受精特性を持つため、牛の繁殖期が始まる2～3ヶ月前から綿実とは与えられない(Myer *et al.* 2003)。また、遊離型ゴッシポールは、綿実油の加工中に加熱により蛋白質と結合し減少するため、綿実油中にはほとんど含まれない。一方、シクロプロペン脂肪酸（マルバリン酸、ステルクリン酸、ジヒドロステルクリン酸）は、飽和脂肪酸の不飽和化を阻害することにより、鶏卵の脱色やふ化率低下を引き起こす。これらのシクロプロペン脂肪酸は、精製油の脱臭工程中に大幅に減少する(OECD 2004)。綿実は大量の繊維に覆われているため、鳥類のような種子を捕食する動物は好まない。また、哺乳類もゴッシポールが含まれていることや、種子の形態により、捕食することを避けると考えられている。さらに、野生の哺乳動物が綿実を捕食するという例も知られていない。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

ワタ281及びワタ3006は、米国ダウ・アグロサイエンス社により、ワタ1445は米国モンサント社により開発された。

ワタ281とワタ3006を交配して作出したワタ281/3006と、ワタ1445を交配することで作出した本スタック系統ワタは、ワタ281、ワタ3006、ワタ1445の3つの組換えワタのそれぞれの特性を有する。したがって、以下ではワタ281、ワタ3006、ワタ1445の調製等に関する情報について個別に述べた。なお、ワタ1445に関する個別情報は、モンサント社により作成された情報であることから、公開されている検討結果及び資料に基づいて、それらの概要を記載した（評価書概要掲載ウェブサイト：日本版BCHのホームページ

http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/15985_1445ap.pdf，米国農務省のホームページ http://www.usda.gov/brs/aphisdocs/95_04501p.pdf）。

イ 構成及び構成要素の由来

ワタ281の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来については表 1 (P.8)に、ワタ3006の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来については表 2 (P.8)に、ワタ1445の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来については表 3 (P.9)にそれぞれ示したとおりである。

ロ 構成要素の機能

目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他の供与核酸の構成それぞれの機能

ワタ281の作出に用いられた供与核酸の各構成要素の機能を表 1 (P.8)に、ワタ3006の作出に用いられた供与核酸の各構成要素の機能を表 2 (P.8)に、ワタ1445の作出に用いられた供与核酸の各構成要素の機能を表 3 (P.9)に示した。

表 1 ワタ 281 の作出に用いられた供与核酸

構成要素	由来及び機能
改変型 <i>cry1F</i> カセット	
(4ocs)DeltaMas 2'	pTiAch5 (Ellis <i>et al.</i> 1987) (GenBank Accession Numbers I05704 to I05712) 由来のオクトピン合成酵素 (OCS) のエンハンサー 4 コピーを含む pTi15955 (Barker <i>et al.</i> 1983) (GenBank Locus ATACH5, Accession X00491) 由来のマンノピン合成酵素のプロモーターであり、ワタの葉における発現量を高める特徴を持つ。
改変型 <i>cry1F</i>	<i>B.t. var. aizawai</i> 由来の <i>cry1F</i> 遺伝子をもとに合成した。タバコバッドワーム (<i>Heliothis virescens</i>)、ビートアーミーワーム (<i>Spodoptera exigua</i>)、コットンボールワーム (<i>Helicoverpa zea</i>) 等のワタの主要害虫に対して殺虫活性を示す改変型 Cry1F 蛋白質をコードする遺伝子。
ORF25 polyA	<i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) pTi15955 (Barker <i>et al.</i> 1983) (GenBank Locus ATACH5, Accession X00491) 由来の双方向ターミネーター。
<i>pat</i> カセット	
UbiZm1 (intron)	第 1 エクソン (翻訳されないエンハンサー) 及び第 1 イントロンを加えたトウモロコシ <i>Zea mays</i> のユビキチン 1 プロモーターであり、ワタの綿実さやでの発現量を高める特徴を持つ。(Christensen <i>et al.</i> 1992) (米国特許第 5614199 号、GenBank Accession I18571)
<i>pat</i>	<i>S. viridochromogenes</i> 由来のフォスフィノトリシン・アセチルトランスフェラーゼ遺伝子配列に基づき、植物用に最適化された合成グルホシネート耐性遺伝子 (Eckes <i>et al.</i> 1989)。選抜マーカーとして使用した PAT 蛋白質をコードする遺伝子。
ORF25 polyA	<i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) pTi15955 (Barker <i>et al.</i> 1983) (GenBank Locus ATACH5, Accession X00491) 由来の双方向ターミネーター。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

表 2 ワタ 3006 の作出に用いられた供与核酸

構成要素	由来及び機能
改変型 <i>cry1Ac</i> カセット	
Ubi Zm1 (intron)	第 1 エクソン及び第 1 イントロンを加えたトウモロコシ <i>Zea mays</i> のユビキチン 1 プロモーターであり、ワタの綿実さやでの発現量を高める特徴を持つ。(Christensen <i>et al.</i> 1992) (米国特許第 5614199 号、GenBank Accession I18571)
改変型 <i>cry1Ac</i>	<i>B.t. var. kurstaki</i> 由来の <i>cry1Ac</i> 遺伝子をもとに合成した。タバコバッドワーム (<i>Heliothis virescens</i>)、ビートアーミーワーム (<i>Spodoptera exigua</i>)、コットンボールワーム (<i>Helicoverpa zea</i>)、ピンクボールワーム (<i>Pectinophora gossypiella</i>) 等のワタの主要害虫に対して殺虫活性を示す改変型 Cry1Ac 蛋白質をコードする遺伝子。
ORF25 polyA	<i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) pTi15955 (Barker <i>et al.</i> 1983) (GenBank Locus ATACH5, Accession X00491) 由来の双方向ターミネーター。
<i>pat</i> カセット	
(4ocs)DeltaMas 2'	pTiAch5 (Ellis <i>et al.</i> 1987) (GenBank Accession Numbers I05704 to I05712) 由来のオクトピン合成酵素 (OCS) のエンハンサー 4 コピーを含む pTi15955 (Barker <i>et al.</i> 1983) (GenBank Locus ATACH5, Accession X00491) 由来のマンノピン合成酵素のプロモーターであり、ワタの葉における発現量を高める特徴を持つ。
<i>pat</i>	<i>S. viridochromogenes</i> 由来のフォスフィノトリシン・アセチルトランスフェラーゼ遺伝子配列に基づき、植物用に最適化された合成グルホシネート耐性遺伝子 (Eckes <i>et al.</i> 1989)。選抜マーカーとして使用した PAT 蛋白質をコードする遺伝子。
ORF25 polyA	<i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) pTi15955 (Barker <i>et al.</i> 1983) (GenBank Locus ATACH5, Accession X00491) 由来の双方向ターミネーター。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

表 3 ワタ 1445 の作出に用いられた供与核酸

構成要素	由来及び機能
<i>Cp4 epsps</i> カセット	
CMoVb	Figwort mosaic virus の 35S プロモーター。目的遺伝子の全組織での恒常的発現に関与する。
ctp2	シロイヌナズナ(<i>Arabidopsis thaliana</i>)の <i>epsps</i> 遺伝子の中で、EPSPS 蛋白質の N 末端側に存在する葉緑体輸送ペプチドをコードする配列。芳香族アミノ酸が合成される葉緑体へ CP4 EPSPS 蛋白質を輸送する。
<i>Cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルピルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。
E9 3'	エンドウの ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9 遺伝子の 3'非翻訳領域。mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
<i>NptII</i> カセット	
35S	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の 35S プロモーター領域。目的遺伝子の全組織での恒常的発現に関与する。
<i>NptII</i> (Kan)	<i>E. coli</i> のトランスポゾン Tn5 に由来する遺伝子。ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼ II をコードし、植物にカナマイシン耐性を付与する。遺伝子導入の際、組換え体植物を選抜するためのマーカーとして用いられる。
NOS 3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域。転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
<i>Gox</i> カセット (ワタ 1445 中には挿入されていない)	
CMoVb	Figwort mosaic virus の 35S プロモーター。目的遺伝子の全組織での恒常的発現に関与する。
Ctp1	<i>A. thaliana</i> 由来の rubisco の small subunit 1A の N 末端側に存在する葉緑体輸送ペプチドをコードする配列。芳香族アミノ酸が合成される葉緑体へ GOX 蛋白質を輸送する。
<i>Gox</i>	<i>Achromobacter</i> sp. strain LBAA のグリホサート分解酵素 (glyphosate oxidoreductase ; <i>gox</i>)由来の変異体 v247 の C-末端をコードする配列。GOX 蛋白質によりグリホサートが分解される。
NOS 3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素(NOS)遺伝子の 3'非翻訳領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
その他の構成要素	
Ori-V	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ABI 株においてベクターに自律増殖能を付与する。
<i>Aad</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> 由来の 3'(9)-O-アミノグリコシドアダニルトランスフェラーゼ(AAD)をコードする遺伝子であり、スペクチノマイシン、及びストレプトマイシン耐性を付与する。
右側境界配列 (RB)	Ti プラスミド pTiT37 に由来する、ノパリン型 T-DNA の右境界配列(24bp)を含む DNA 断片。右側境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される。
<i>Or322</i>	<i>E. coli</i> 由来のプラスミド pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する。
<i>Rop</i>	<i>E. coli</i> 由来であり、 <i>E. coli</i> 中で複製されるプラスミドのコピー数を制御する。

(http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/15985_1445ap.pdf より抜粋)

目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質

B.t. var. aizawai 及び *B.t. var. kurstaki* において産生されるデルタ-エンドトキシン（プロトキシン）の多くは、約120～140kDaの蛋白質である（Schnepf *et al.* 1998）。標的昆虫に摂食されると、プロトキシンは腸管内のプロテアーゼにより、C-末端及びN-末端が消化され殺虫活性のあるコアトキシンとなる。これらのコアトキシンは65～70kDaの分子量であり、中腸上皮にある特異的な受容体と結合することで、立体配位構造が変化して細胞膜に侵入する。さらに、この蛋白質はオリゴマーを形成し、それが中腸細胞膜に細孔構造をつくり、その結果、細胞の破壊が誘導され昆虫を死に至らしめる。ワタ281/3006中で発現する改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質の活性部分であるコア蛋白質は、野生型*B.t.*菌のCry1F及びCry1Ac蛋白質のコア蛋白質と同一である。野生型*B.t.*菌を利用したBt製剤は、米国、ヨーロッパ及び日本等で長年にわたり、チョウ目害虫防除に使用されている。

Cry1F及びCry1Ac蛋白質を含むCry1蛋白質はチョウ目昆虫に対してのみ殺虫活性を示すことが知られている（Prieto-Samsónov *et al.* 1997）。改変型Cry1F蛋白質は、ワタを加害するチョウ目害虫であるタバコバッドワーム（*Heliothis virescens*）、ビートアーミーワーム（*Spodoptera exigua*）、コットンボールワーム（*Helicoverpa zea*）、ソイビーンルーパー（*Pseudoplusia includens*）に対して殺虫活性を示す。また、改変型Cry1Ac蛋白質はタバコバッドワーム、ビートアーミーワーム、コットンボールワーム、ソイビーンルーパー、ピンクボールワーム（*Pectinophora gossypiella*）に対して殺虫活性を示す。ワタ281/3006は、改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質の両Cry蛋白質を発現するため、両方の殺虫活性を併せ持つ。

また、改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質の非標的生物であるオオミジンコ、ニッポンクサカゲロウ、テントウムシ、ミツバチ、キョウソヤドリコバチ、ミミズ、ニジマスに投与した範囲において影響は認められなかった。

PAT蛋白質

PAT蛋白質（ホスフィノトリシン・アセチルトランスフェラーゼ）は、除草剤グルホシネートの特異的にアセチル化し、無毒のアセチルグルホシネートに変換して除草活性を失わせることから、PAT蛋白質を発現する植物体は、除草剤グルホシネートに耐性を示す。PAT蛋白質は、除草剤グルホシネートの活性成分であるL グルホシネートに対して極めて高い基質特異性を有し、他のL アミノ酸やL グルホシネートの光学異性体であるD グルホシネートをも基質としないことが報告されている（OECD 1999）。

CP4 EPSPS蛋白質

除草剤グリホサートは、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の一つである5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)と特異的に結合してその活性を阻害し、植物は蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯死する。*cp4 epsps* 遺伝子により産生される CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサートに対して耐性をもつため、グリホサート存在下でも活性阻害を受けず、本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸合成が正常に機能して生育することができる。EPSPS 蛋白質はホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応する酵素で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路における律速酵素ではないと示唆されている。また、これらの基質以外にシキミ酸が EPSPS 蛋白質と反応することが知られているが、その反応性はシキミ酸-3-リン酸との反応性の 200 万分の 1 であり、生体内で基質として反応するとは考えられない。

NPTII蛋白質

nptII 遺伝子により産生される NPTII 蛋白質は、アデノシン 5'-三リン酸(ATP)の末端リン酸基を抗生物質のアミノ酸糖分子の水酸基に転移させることにより、アミノグリコシド系抗生物質を不活性化する。アミノグリコシド系抗生物質は、リボソーム上の標的蛋白質と特異的に結合して蛋白質合成を阻害することにより細胞を殺すが、NPTII 蛋白質によりリン酸化されるとリボソーム上の蛋白質と結合できなくなり、蛋白質合成阻害が起こらなくなる。

アレルギー性

改変型Cry1F、改変型Cry1Ac、PAT、CP4 EPSPS及びNPTII蛋白質が既知アレルギーと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルギー・データベース (Swiss-Prot, PIR, GenRept, FARRP Protein Allergen Database、Genbank, EMBL, NRL3D) を用いて比較したところ、いずれの蛋白質も既知アレルギーと構造的に類似する配列を共有していなかった。

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

Cry蛋白質は酵素ではないこと、PAT蛋白質及びEPSPS蛋白質は基質特異性が高いこと、NPTII蛋白質はアミノグリコシド系抗生物質をリン酸化する酵素であることから、いずれの蛋白質も植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

ワタ281の作出に用いられた発現ベクター-pAGM281及びワタ3006の作出に用いられた発現ベクター-pMYC3006は、広域宿主プラスミドRK2をもとに構築された。一方、ワタ1445の作出に用いられた発現ベクター-PV-GHGT07は大腸菌由来のpBR322をもとに構築された。

ロ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

発現ベクター-pAGM281の塩基数は14,950bpである。発現ベクター-pMYC3006の塩基数は15,337bpである。発現ベクター-PV-GHGT07の塩基数は12,032bpである。これらの発現ベクターの構成要素の塩基配列は明らかにされている。

特定の機能を有する塩基配列の種類

ery^r 遺伝子によるエリスロマイシン耐性は、発現ベクター-pAGM281、pMYC3006の選択に用いられた。ただし、*ery^r* 遺伝子はT-DNA領域の外側に位置するためワタ281及びワタ3006にはこの遺伝子は導入されていない。PV-GHGT07中のカナマイシン及びネオマイシン耐性遺伝子である *nptII* 遺伝子とスペクチノマイシン耐性遺伝子である *aad* 遺伝子はワタ1445に導入されたが、*aad* 遺伝子は植物中で機能するプロモーターをもたないため、ワタ1445中では発現していない。実際に測定を行ったところ、*aad* 遺伝子の産物であるAAD蛋白質は、ELISA検定における検出限界値（種子の生組織重1mgあたり0.025ng、葉の生組織重1mgあたり0.013ng）未満であった。

ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報 pAGM281、pMYC3006及びPV-GHGT07に感染性は知られていない。

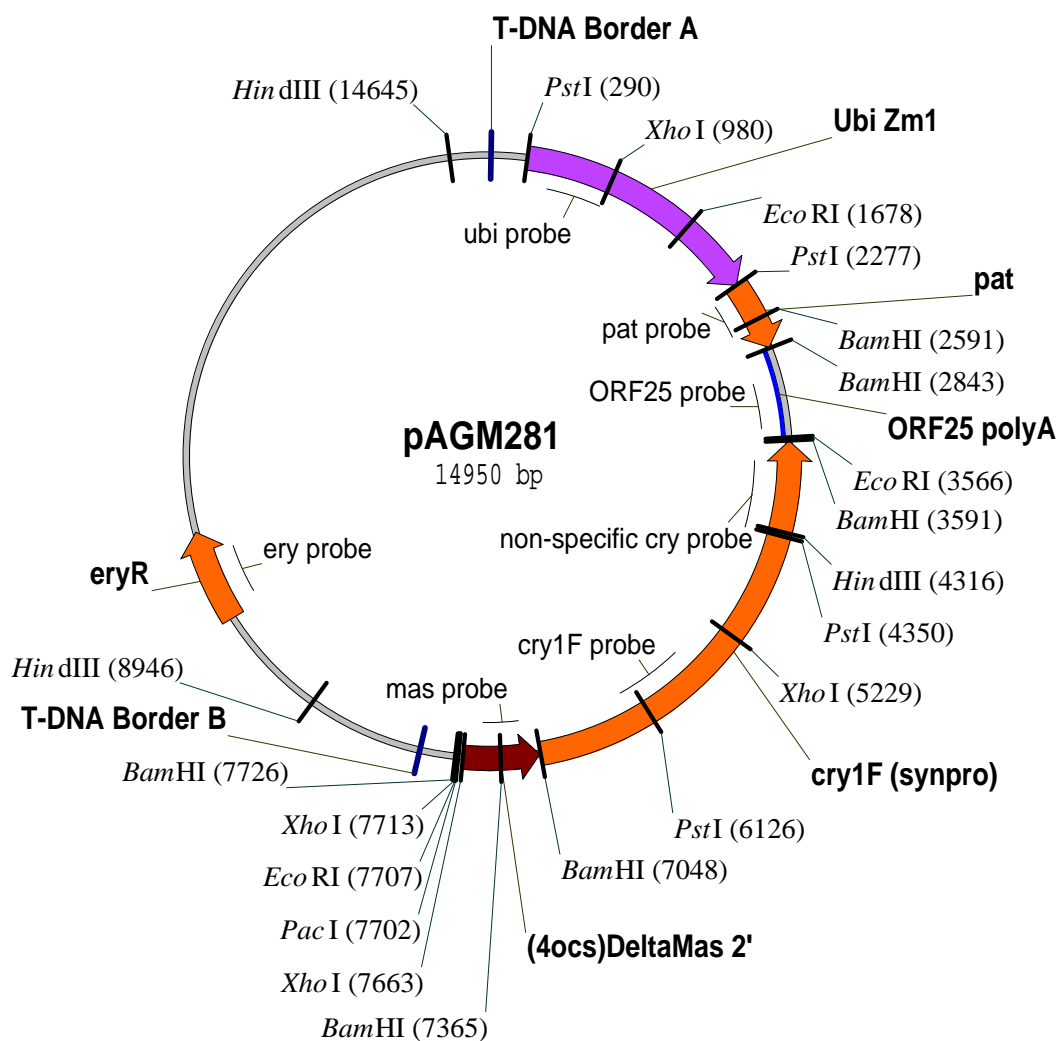
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

ワタ281の作出に用いられた発現ベクター-pAGM281における供与核酸の構成要素の位置、方向及び制限酵素による切断部位を図 1 (P.13) に示した。

ワタ3006の作出に用いられた発現ベクター-pMYC3006における供与核酸の構成要素の位置、方向及び制限酵素による切断部位を図 2 (P.14) に示した。

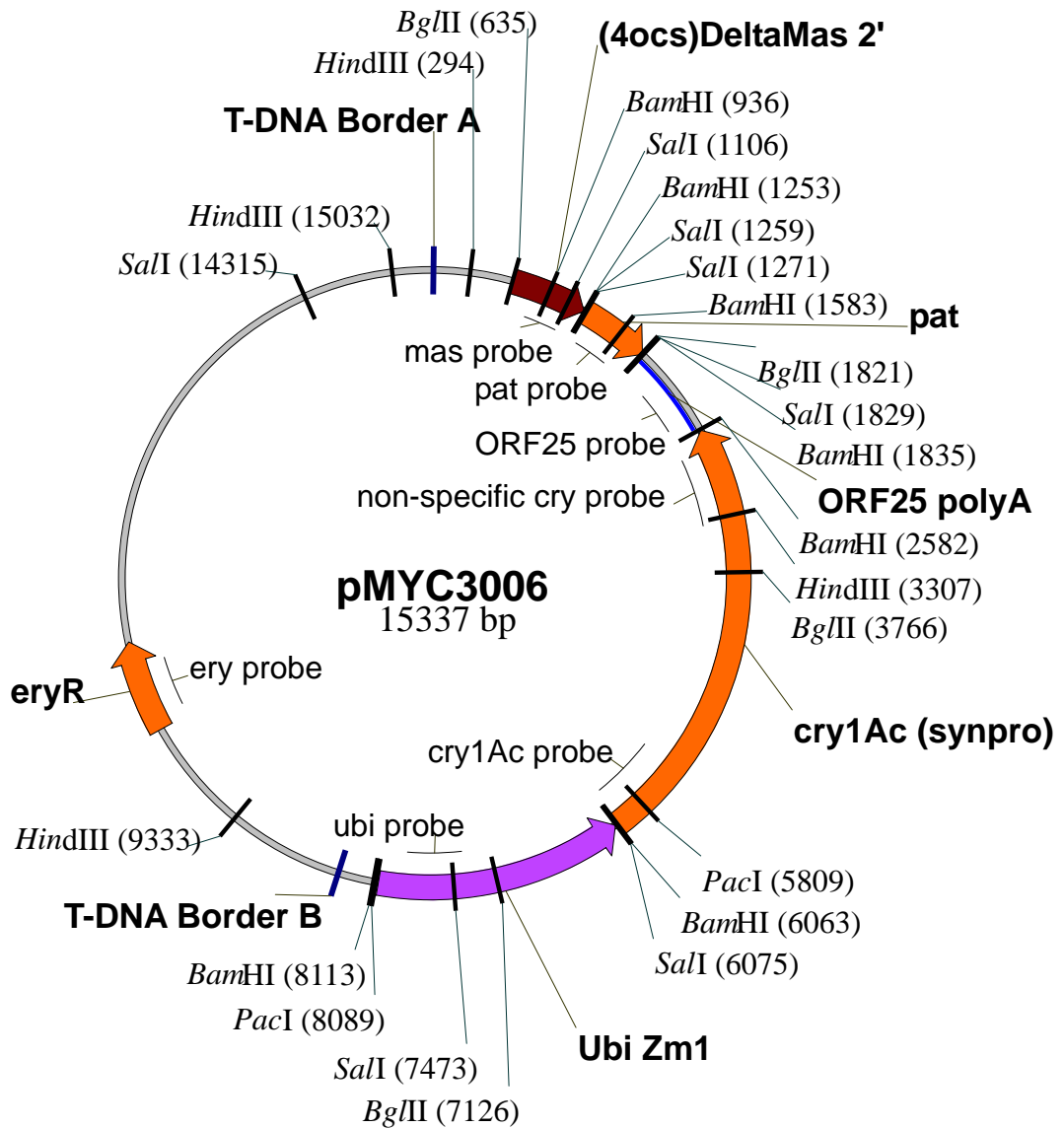
ワタ1445の作出に用いられた発現ベクターPV-GHGT07における供与核酸の構成要素の位置、方向及び制限酵素による切断部位を図 3 (P.15) に示した。



T-DNA Border A : T-DNA 左末端
 T-DNA Border B : T-DNA 右末端

図 1 ワタ 281 の作出に用いられた発現ベクターpAGM281 の構成図

(注 : 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)



T-DNA Border A : T-DNA 左末端
T-DNA Border B : T-DNA 右末端

図 2 ワタ 3006 の作出に用いられた発現ベクターpMYC3006 の構成図

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

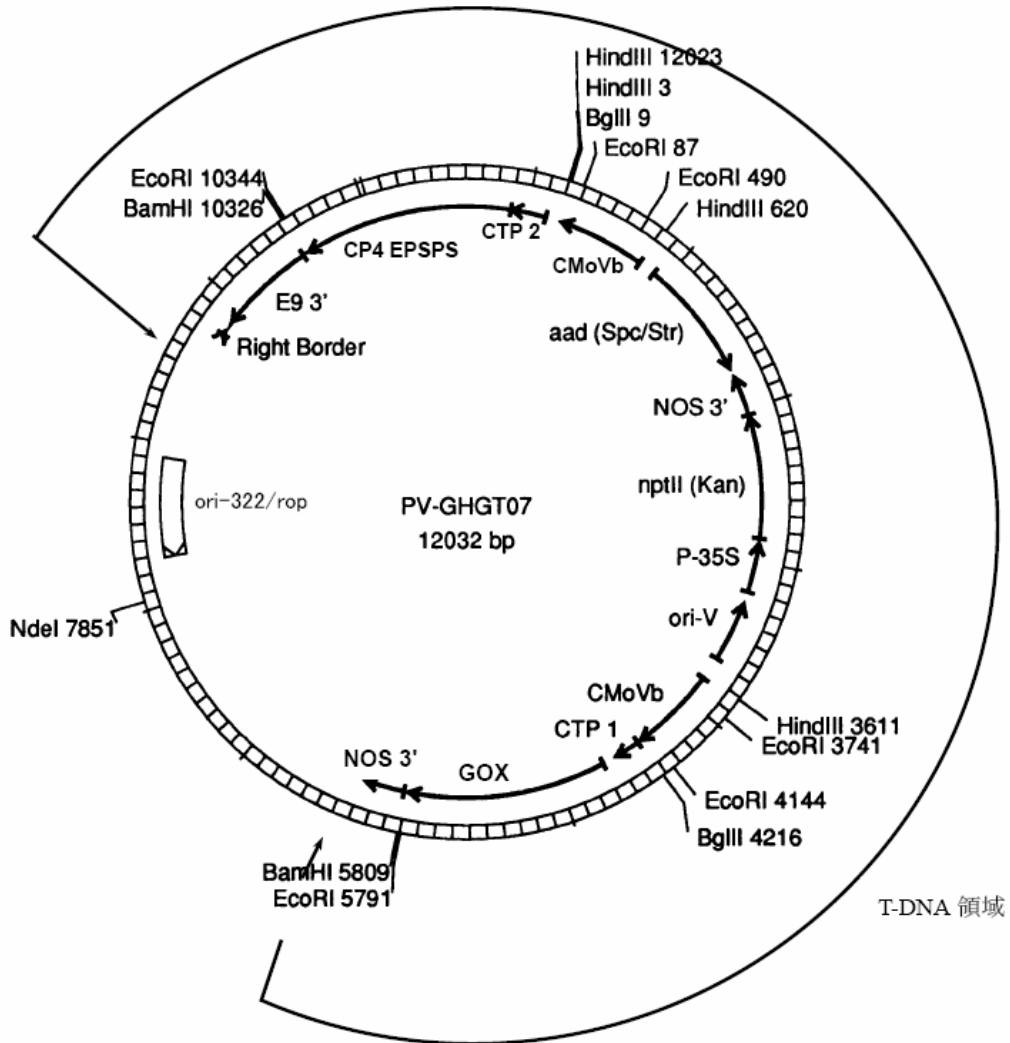


図 3 ワタ 1445 の作出に用いられた発現ベクターPV-GHGT07 の構成図

(http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/15985_1445ap.pdf より抜粋)

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

ワタ281及びワタ3006の宿主である実験用ワタGC510系統 (*G. hirsutum*) への発現ベクター-pAGM281、pMYC3006の導入、並びにワタ1445の宿主である従来ワタ品種Coker312 (*G. hirsutum*) への発現ベクター-PV-GHGT07の導入は、アグロバクテリウム法により行われた。ワタ281及びワタ3006の作出には、それぞれ発現ベクター-pAGM281及びpMYC3006のT-DNA領域をGC510系統ワタの子葉切片に導入した。一方、ワタ1445の作出には、発現ベクター-PV-GHGT07のT-DNA領域をCoker312の胚軸に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

核酸が導入された細胞の選抜の方法

ワタ281及びワタ3006の作出には、グルホシネート及び抗生物質カルベニシリンを含む培地でカルスを形成させ、その後再生培地を用いて植物体まで再生させた。得られた再生個体について挿入遺伝子の存在をサザンブロット分析で確認し、標的害虫であるタバコバッドワームに対する抵抗性について、葉片ディスクによる生物検定で確認した。

ワタ1445の作出には、アグロバクテリウム法による核酸導入後、カナマイシンを含む培地上で再生個体を得た。形質転換体をカルベニシリンとパロモマイシンを含む培地で培養後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移して培養することにより、アグロバクテリウムの残存性がないことを確認した。得られた再生個体について、挿入遺伝子やCP4 EPSPS蛋白質の発現量の解析により更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外ほ場での実際のグリホサート耐性及び農業形質などから総合的に判断してワタ1445を選抜した。

アグロバクテリウムの菌体の残存の有無

ワタ281及びワタ3006の作出においては、カルスを誘導する段階で、抗生物質カルベニシリンを添加することにより、アグロバクテリウムを殺菌し、アグロバクテリウム菌体が残存していないことを確認した。一方、ワタ1445の作出においては、形質転換体をカルベニシリンとパロモマイシンを含む培地で培養した後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移して培養することによって、アグロバクテリウムの残存性がないことを確認した。

育成の経過及び系統樹

ワタ281/3006の育種には、一般的に行われている自家受粉による系統育種法により行った。まず、F2世代においてPCR法により改変型 *cry1F* 及び改変型 *cry1Ac* 遺伝子をもつ株を特定し、両遺伝子をもたない株を開花前に除去した。次に、開花した株において自家受粉を行い、F3

世代を得、これを繰り返すことによりF4世代を得た。一方、ワタ1445は優良品種ワタと交配し、選抜育種を行った。

さらに、ワタ281/3006のF4世代とワタ1445のBC3F1世代を従来育種法により掛け合わせることで、本スタック系統ワタを作出した。本スタック系統ワタの育種には、一般的に行われている自家受粉による系統育種法により行った。PCR法による改変型 *cry1F* 及び改変型 *cry1Ac* 遺伝子の確認と除草剤グリホサートの散布により本スタック系統ワタを選抜した。なお、本スタック系統ワタの育成図を図 4 (P.18) に示した。

ワタ281、ワタ3006、ワタ281/3006及びワタ1445の我が国における認可、申請の状況は次のとおりである。ワタ281/3006は伝統的な育種の手法を用いて作出した品種であるため、飼料安全性についての新たな確認を義務付けられるものではないこととなっている。

ワタ281

- 2005年7月 農林水産省に「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行った。
- 2005年9月 厚生労働省より「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。

ワタ3006

- 2005年7月 農林水産省に「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行った。
- 2005年9月 厚生労働省より「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。

ワタ281/3006

- 2004年12月 農林水産省及び環境省に「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用（食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為について）の申請を行った。
- 2005年10月 厚生労働省より「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。

ワタ1445

- 1997年12月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入（加工用及び飼料用としての利用）について、指針への適合性が確認された。
- 1997年12月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 1998年1月 「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
- 2001年3月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003年3月 農林水産省より「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
- 2004年11月 農林水産省及び環境省より「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用（食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為について）の承認を受けた。

社外秘情報につき非公開

図4 本スタック系統ワタの育成過程

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

ワタ281及びワタ3006は個々に販売する予定はない。ワタ281とワタ3006を掛け合わせて作出したワタ281/3006のみを販売する予定であるため、生物多様性影響についての評価はワタ281/3006で行った。したがって、形質発現の安定性については、ワタ281/3006とワタ1445をもとに述べた。

イ 移入した核酸が存在する場所

ワタ281/3006についてF1及びF2世代の形質分離を調べた結果、核内遺伝子におけるメンデルの法則から予想される分離比を示したことより、挿入遺伝子は染色体ゲノム中に組み込まれていることが確認されている。また、ワタ1445については、サザンプロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、挿入遺伝子は染色体ゲノム中に組み込まれていることが確認されている。

ロ 移入した核酸のコピー数及び導入された核酸の複数世代における伝達の安定性

ワタ281/3006及びワタ1445の導入された核酸の複数世代における伝達の安定性については、既にそれぞれの系統の生物多様性影響評価において確認されている。

なお、本スタック系統ワタは自殖を5世代にわたって行い、遺伝子をホモにもっている個体を選抜している。

ワタ281/3006及びワタ1445由来の導入遺伝子が、F4世代の本スタック系統ワタ中に安定的に存在していることをサザンプロット分析により確認した (Green *et al* 2005)。温室で栽培したワタ281/3006、ワタ1445及び本スタック系統ワタの葉からDNAを抽出し、分析に用いた。ワタ281/3006由来の導入遺伝子の確認には、制限酵素 *EcoRV*、*BamHI* もしくは *XhoI* で切断し、それぞれ *cry1F*、*cry1Ac* もしくは *pat* 遺伝子をプローブとしたサザンプロット分析を行った。また、ワタ1445由来の導入遺伝子の確認には、制限酵素 *HindIII* で切断し、*nptII* 遺伝子をプローブとしたサザンプロット分析を行った。その結果、ワタ281/3006由来の1コピーの改変型 *cry1F* 遺伝子、1コピーの改変型 *cry1Ac* 遺伝子及び2コピーの *pat* 遺伝子と1つの *pat* 遺伝子の断片、ワタ1445由来の1コピーの *nptII* 遺伝子が確認された (添付資料1)。また、サザンプロット分析に用いた葉におけるCP4 EPSPS蛋白質の発現をラテラルフローストリップを用いて確認した結果、CP4 EPSPS蛋白質の発現が認められたことより、*cp4 epsps* 遺伝子も本スタック系統ワタ中に安定的に存在しているものと考えられた。

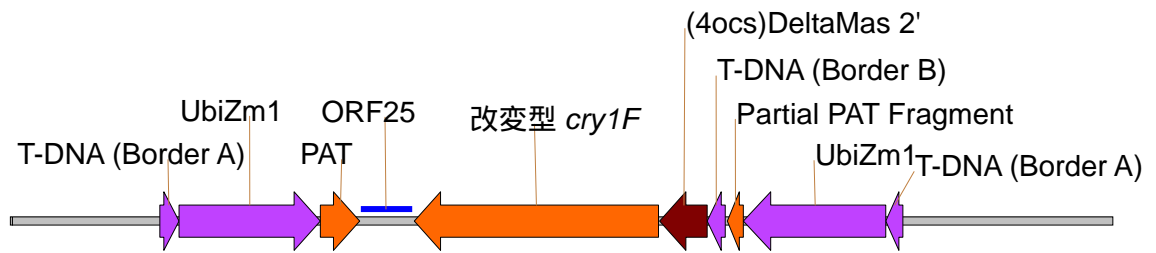


図 5 ワタ 281 の挿入遺伝子地図

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

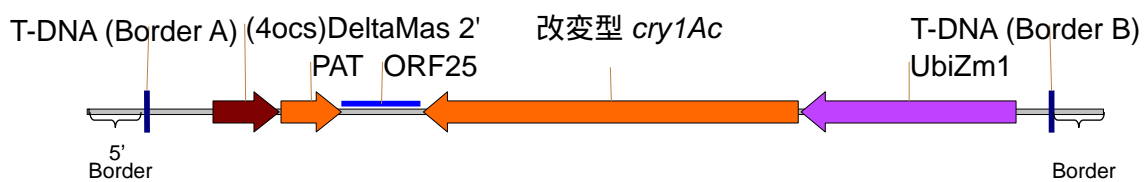


図 6 ワタ 3006 の挿入遺伝子地図

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

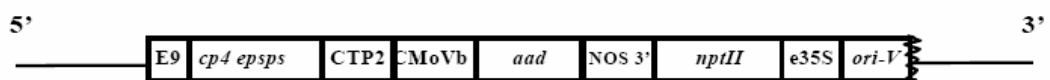


図 7 ワタ 1445 の挿入遺伝子地図

(http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/15985_1445ap.pdf より抜粋)

ハ 染色体上に複数コピーが存在している場合はそれらが隣接しているか離れているかの別

ワタ281/3006には*pat*遺伝子が2コピー存在し、1コピーはワタ281由来で、1コピーはワタ3006由来である。ワタ281に存在する*pat*遺伝子は、発現ベクターpAGM281のT-DNA領域として改変型*cry1F*遺伝子とともに導入されたものである。また、ワタ3006に存在する*pat*遺伝子は、発現ベクターpMYC3006のT-DNA領域として改変型*cry1Ac*遺伝子とともに導入されたものである。ワタ281に導入された改変型*cry1F/pat*遺伝子とワタ3006に導入された改変型*cry1Ac/pat*遺伝子は、ワタ281とワタ3006のそれぞれ別のゲノム上に存在する。

ワタ281/3006は、ワタ281とワタ3006を交配育種法により掛け合わせて作出したものであり、F1及びF2世代の形質分離試験において、2つの独立する核内遺伝子がメンデルの法則に従う分離比を示した。さらに、ワタ281とワタ3006特有の塩基配列を用いたPCR法によるワタ281/3006の検出においても、ワタ281/3006ではワタ281及びワタ3006特有のバンドが認められている。

以上のことから、ワタ281/3006に存在する2コピーの*pat*遺伝子は離れているものと考えられ、ワタ281/3006とワタ1445を掛け合わせて作出した本スタック系統ワタにおいても*pat*遺伝子は離れているものと考えられる。

ニ 移入された核酸の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

ワタ281/3006及びワタ1445の複数世代、複数個体での発現の安定性については、それぞれの系統の生物多様性影響評価においてELISA法による分析及び生物検定により確認している。

本スタック系統ワタは、2004年に行った米国のほ場試験において、ワタを加害するチョウ目害虫に対してワタ281/3006と同様に十分な防除効果を示したことから、改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質が本スタック系統ワタにおいても安定して産生されているものと考えられた（Huckaba *et al.* 2004、P.22、表4及び表5）。さらに、2004年に行った米国5ヵ所のほ場試験において、ワタ281/3006と本スタック系統ワタの葉及び蕾における改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質の発現量を比較した。その結果、改変型Cry1F蛋白質の発現量（ng/mg 乾燥組織重量）は、葉においては本スタック系統ワタで8.1～32.5、ワタ281/3006で19.2～39.2であり、蕾においては本スタック系統ワタで3.9～5.3、ワタ281/3006で4.5～5.0であった。また、改変型Cry1Ac蛋白質の発現量（ng/mg 乾燥組織重量）は、葉においては本スタック系統ワタで1.6～2.6、ワタ281/3006で2.0～2.5であり、蕾においては本スタック系統ワタで1.2～2.1、ワタ281/3006で1.1～2.2であった。このように、代表的なワタ栽培地の様々な環境条件でも、本スタック系統ワタにおいて改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質がワタ

281/3006と同様に安定して発現しているものと考えられた (P.23, 表 6)。また、ワタ281及びワタ3006を作出する際に選抜マーカーとして用いたPAT蛋白質の種子における発現量 (ng/mg 生組織重量) は、本スタック系統ワタで0.28~0.79、ワタ281/3006で0.33~0.71であり、本スタック系統ワタにおいてもPAT蛋白質が発現していることを確認している (P.23, 表 7)。

次に、本スタック系統ワタにおけるワタ1445由来の除草剤グリホサート耐性については、グリホサート散布試験により確認した。本スタック系統ワタ、ワタ1445及びワタ281/3006に通常散布量 (870 g ae/ha) もしくは20倍散布量 (17,400 g ae/ha) のグリホサートを散布し、グリホサートによる植物体の壊死の程度を調査した。その結果、本スタック系統ワタとワタ1445のグリホサート散布による壊死の程度に差は認められなかった (P.23, 表 8)。

表 4 チョウ目害虫¹⁾に対する防除効果 (ブラックビル、ノースカロライナ州、2004年)

	蕾被害率 (%) ²⁾	綿実さや被害率 (%) ³⁾
本スタック系統ワタ	2.0 b	0.0 b
ワタ 281/3006	3.0 b	2.0 b
ワタ 1445	42.0 a	34.0 a

1) 自然発生：コットンボールワーム (81%)、タバコバッドワーム (19%)。尚、発生比率は、フェロモントラップをほ場に設置し、捕獲虫数から計算した。

2) 25 蕾/反復 (4 反復) について、播種 76 日後に調査した。

3) 25 さや/反復 (4 反復) について、播種 82 日後に調査した。

* 同じアルファベットは、Tukey's HSD テスト (P>0.05) において有意差がないことを示す。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

表 5 コットンボールワーム¹⁾に対する防除効果 (ジェームズビル、ノースカロライナ州、2004年)

	蕾被害率 (%) ²⁾	綿実さや被害率 (%) ³⁾
本スタック系統ワタ	7.0 b	7.5 b
ワタ 281/3006	11.3 b	5.8 b
ワタ 1445	65.8 a	56.3 a

1) 自然発生

2) 40 蕾/反復 (4 反復) について、播種 90 日後に調査した。

3) 40 さや/反復 (4 反復) について、播種 90 日後に調査した。

* 同じアルファベットは、Tukey's HSD テスト (P>0.05) において有意差がないことを示す。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

表 6 本スタック系統ワタ及びワタ 281/3006 の葉及び蕾における改変型 Cry1F 及び 改変型 Cry1Ac 蛋白質の平均発現量

社外秘情報につき非公開

表 7 本スタック系統ワタ及びワタ 281/3006 の種子における PAT 蛋白質の平均発現量

社外秘情報につき非公開

表 8 本スタック系統ワタ、ワタ 1445 及びワタ 281/3006 のグリホサート散布試験

試験サンプル ²⁾	壊死割合 (%) ¹⁾	
	× 1 (870g ae/ha) ³⁾	× 20 (17,400g ae/ha) ³⁾
本スタック系統ワタ	0	37
ワタ 1445	3	43
ワタ 281 / 3006	70	90

1) 米国ダウ・アグロサイエンス社の温室で生育させた 2 葉期の植物体にグリホサートを散布し、7 日後に、壊死の起こった割合(0%：壊死なし~ 100%：枯死)を調査した。

2) 3 植物体 / 区、3 反復の平均値を求めた。

3) ae(acid equivalent)：グリホサートがカリウム塩として存在する製剤を使用した。活性成分であるグリホサート酸として記載するために、酸換算量を用いた。尚、870g ae/ha は除草剤グリホサート原液を 1.6 /ha、17,400g ae/ha は除草剤グリホサート原液を 32 /ha 散布する量に相当する。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

ホ ウイルスの感染その他の経路を經由して供与核酸が野生動植物等に伝達されるおそれ

本スタック系統ワタには、伝達性を有する配列は含まれておらず、本スタック系統ワタに導入された遺伝子が伝達される事はない。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

ワタ281/3006の検出及び識別の方法として、ワタ281とワタ3006にそれぞれ特異的な塩基配列をプライマーとして組み合わせて用いたPCR法が開発されており、本法により、ワタ281/3006を特異的に検出可能である。また、ワタ1445を検出及び識別するための方法としては、挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムのDNA配列をプライマーとして定性的PCR法が開発されており、本法によりワタ1445を特異的に検出可能である。本スタック系統ワタを検出及び識別するためには、一つの種子を上述の2方法で分析し、いずれの分析でも陽性の結果が出た場合、本スタック系統ワタであることが確認できる。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質は酵素活性を持たず、植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。また、改変型Cry1F蛋白質と改変型Cry1Ac蛋白質は米国において行われた防除効果試験により、相互に影響を及ぼさないことが明らかにされている。PAT蛋白質は、きわめて特異的にグルホシネートをアセチル化する酵素であり、植物中において基質となるのはグルホシネートのみである。したがって、PAT蛋白質が他の代謝系に関与することは考えられない。また、CP4 EPSPS蛋白質と同等の機能を持つEPSPS蛋白質は、シキミ酸経路の律速酵素ではないことが示唆されていること及びCP4 EPSPS蛋白質は基質特異性が高いことから、他の代謝系に関与することは考えられない。したがって、これらの蛋白質が相互に影響を受ける可能性はないと考えられる。さらに、第一の2-(4)-二 (P.21) で述べたように、本スタック系統ワタの発現形質について行った試験の結果、ワタ281/3006及びワタ1445が発現する形質が相互に影響を及ぼさないことが確認されている。

以上のことから、本スタック系統ワタと宿主の属する分類学上の種であるワタとの相違については、ワタ281/3006及びワタ1445の諸形質を個別に調査した結果を用いて想定した。

イ 移入された核酸の複製物により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容 (特定の組織又は生育段階において特異的に発現している場合は、その内容を含む)

本スタック系統ワタの親系統であるワタ281/3006及びワタ1445に挿入された遺伝子により、改変型Cry1F、改変型Cry1Ac、PAT及びCP4 EPSPS蛋白質が本スタック系統ワタにおいて発現している。改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質の発現によりチョウ目害虫抵抗性が付与されており、CP4 EPSPS蛋白質の発現により除草剤グリホサート耐性が付与されている。また、PAT蛋白質はワタ281及びワタ3006の作出における選抜マーカーとして用いており、除草剤グルホシネート耐性が付与されている。

ロ 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度

ワタ281/3006については平成15年に、ワタ1445は平成9年に我が国において隔離ほ場試験を行い、非組換えワタとの相違を検討した。

形態及び生育の特性

ワタ281/3006及びワタ1445について発芽揃い、発芽率、草型、草丈（主茎長）、開花期、花色、葉形、有効花蕾数、結果枝数、開じょ期、繊維の色（綿毛の色）、さく（ワタの果実）の形状、1株当りのさく数（ワタ281/3006では収穫及び未収穫を分けて計測）、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、収穫期、1さくの重量（ワタ1445では乾燥重量）、収穫期の地上部・地下部の重量について、それぞれの組換えワタと対照の非組換えワタ間の形態特性及び生育の差異を調査した。その結果、生物多様性に影響を及ぼすような差異は認められなかった。したがって、本スタック系統ワタにおいて、生物多様性に影響を及ぼすような差異はないと考えられる。

生育初期における低温耐性

ワタ281/3006では人工気象器において生育初期の低温耐性を、ワタ1445ではほ場において冬期の種子発芽率と越冬性を調査し、いずれも冬期に生育しないことが確認されており、本スタック系統ワタにおいても生育初期の低温耐性を持たないと考えられる。

成体の越冬性

ワタ281/3006及びワタ1445それぞれの隔離ほ場試験において栽培した株を観察した結果、ワタ281/3006では12月下旬までの低温及び降霜で完全に枯死し、ワタ1445の隔離ほ場試験終了時に、部分的に枯死が始まっていることを確認しており、成植物での越冬も困難であると考えられ、本スタック系統ワタにおいても成植物での越冬は困難であると考えられる。

花粉の稔性及びサイズ

我が国においては、本スタック系統ワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培も殆ど行われていない。よって、搾油用または飼料用として輸入された本スタック系統ワタの種子が輸送中にこぼれ落ち、自生化することにより他の植物を駆逐し、我が国の生物多様性に影響を与えることが想定される。しかし、こぼれ落ちた種子が発芽した後に生育あるいは

自生化して完全な成体になることはないことと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が我が国の自然条件下で生育あるいは自生化したという報告はされていないことから、本スタック系統ワタにおいて花粉の稔性及びサイズの調査は行わなかった。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量については、1株当たりのさく数、さくの室数、さく当たりの種子数、さく重量の組換えワタと非組換えワタとの差異を調査した。その結果、組換えワタと非組換えワタの間に有意差は認められなかった。脱粒性に関しては、ワタの種子は地毛が絡み合って分離しにくいいため、種子の脱粒性は低いものと考えられる。ワタの種子は休眠性が極めて浅く、土壤中湿度や温度（14℃以上）など一定の条件が揃えば発芽することが知られている。また、種子の低温での生存性及び越冬能力は極めて低く、我が国の冬季における低温条件下では発芽能力を維持できないと判断されたため、休眠性に関する試験は行わなかった。発芽率については、ワタ1445において対照の非組換えワタと有意差が見られたが、これは種子サンプルの裂皮による品質低下が原因であると考えられ、生物多様性に影響を与えるものではないと考えられる。したがって、本スタック系統ワタにおいて非組換えワタと差異はないと考えられる。

交雑率

我が国では、本スタック系統ワタが属する4倍体ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しない。したがって、本スタック系統ワタの交雑率については検討を行わなかった。

有害物質の産生性

で述べたように、本スタック系統ワタが有害物質を産生して我が国の生物多様性に影響を与えるとすれば、搾油用または飼料用として輸入された種子が輸送中にこぼれ落ち、自生化することにより他の植物を駆逐し、我が国の生物多様性に影響を与えることが想定される。しかし、根や地上部からの有害物質に関しては、こぼれ落ちた種子が発芽して、ある程度まで生育した後でないと、影響が生ずる可能性のあるほどの量の有害物質を生成しないことと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が発芽して、ワタが我が国の自然条件下で生育あるいは自生化したという報告はされていないことから、本スタック系統ワタの有害物質の産生性に関する試験は行わなかった。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

(2) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

「緊急措置計画書」を参照。

(3) 国外における使用等に関する情報

国外におけるワタ281/3006及びワタ1445の安全性に係る承認の状況は次のとおりである。なお、米国、メキシコ、オーストラリアにおいて本スタック系統ワタについての個別の承認は必要ないこととなっている。

ワタ281/3006

2004年7月	米国農務省（USDA）より無規制裁培の許可を得た。
2004年8月	米国食品医薬品局（FDA）より食品及び飼料としての安全性許可を得た。
2004年9月	米国環境省（EPA）より害虫抵抗性ワタの登録認可を得た。
2004年9月	メキシコ保健省より害虫抵抗性ワタの登録認可を得た。

ワタ1445

1995年7月	米国農務省（USDA）より無規制裁培の許可を得た。
1995年9月	米国食品医薬品局（FDA）より食品及び飼料としての安全性許可を得た。
1996年2月	米国環境省（EPA）より生育中のワタへの除草剤グリホサートの適用認可を得た。
2000年9月	オーストラリア遺伝子技術規制局の暫定機関（IOGTR）から飼料及び環境への安全性認可を得た。
2000年11月	オーストラリア・ニュージーランド食品基準局（FSANZ）から食品としての安全性認可を得た。
2003年6月	オーストラリア遺伝子技術規制局（OGTR）から飼料及び環境への安全性認可を得た。

なお、国内におけるワタ281、ワタ3006、ワタ281/3006及びワタ1445の認可、申請の状況は次のとおりである。ワタ281/3006は伝統的な育種の手法を用いて作出した品種であるため、飼料安全性についての新たな確認を義務付けられるものではないこととなっている。

ワタ281

- 2005年7月 農林水産省に「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行った。
- 2005年9月 厚生労働省より「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。

ワタ3006

- 2005年7月 農林水産省に「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性審査基準」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行った。
- 2005年9月 厚生労働省より「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。

ワタ281/3006

- 2004年12月 農林水産省及び環境省に「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用（食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為について）の申請を行った。
- 2005年10月 厚生労働省より「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。

ワタ1445

- 1997年12月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入（加工用及び飼料用としての利用）について、指針への適合性が確認された。
- 1997年12月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 1998年1月 「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。

- 2001年3月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003年3月 農林水産省より「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
- 2004年11月 農林水産省及び環境省より「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用（食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為について）の承認を受けた。

第二 項目毎の生物多様性影響の評価

本スタック系統ワタは、ワタ281/3006とワタ1445を交雑により掛け合わせ、ワタ281/3006とワタ1445の特性を併せ持つものを選抜することで作出された。

第一の2 - (6)で述べたとおり、

改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質は酵素活性を持たず、宿主の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられること、

改変型Cry1F蛋白質と改変型Cry1Ac蛋白質は米国において行われた防除効果試験により相互に作用を及ぼさないことが明らかにされていること、

PAT及びCP4 EPSPS蛋白質はそれぞれ基質特異性が高いこと、

生物検定により本スタック系統ワタとワタ281/3006との間でチョウ目害虫抵抗性に差がないことが確認されていること、グリホサート耐性試験及びPAT蛋白質の発現量の測定により除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性が発現していることが確認されていること

から、これらの蛋白質が付与する形質が相互に影響を受ける可能性は考えにくく、親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられる。

以上から、本スタック系統ワタの生物多様性影響の評価は、ワタ281/3006とワタ1445の諸形質を個別に調査した結果を用いて行った。

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本スタック系統ワタの親系統であるワタ281/3006とワタ1445の野生動植物との競合における優位性に寄与すると考えられる特性(形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、種子の生産量・脱粒性・休眠性・発芽率)について調査を行った。その結果、ワタ281/3006及びワタ1445ともに競合における優位性に影響を及ぼすような差異は認められなかった。

本スタック系統ワタは、改変型 *cry1F* 及び改変型 *cry1Ac* 遺伝子の発現により、改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質が産生されることからチョウ目害虫に対して抵抗性を示す。しかし、チョウ目害虫による食害は、ワタが我が国の自然環境下において生育することを困難にさせる主な要因ではないことから、この形質によって本スタック系統ワタが自生し、競

合における優位性を持つようになるとは考えられない。また、本スタック系統ワタは、除草剤グリホサート耐性及び除草剤グルホシネート耐性を有するが、グリホサート及びグルホシネートが散布されることが想定されにくい自然環境下において、これら2つの除草剤耐性を併せ持つことが競合における優位性を高めるとは考えられない。

以上のことより、本スタック系統ワタにおいて、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、本スタック系統ワタの競合における優位性に起因して生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ワタには、他感作用物質のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。また、我が国においては、本スタック系統ワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培自体も殆ど行われていない。したがって、本スタック系統ワタが有害物質を産生して我が国の生物多様性に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは、自生化して他の植物を駆逐する場合が想定された。しかし、根や地上部からの有害物質に関しては、こぼれ落ちた種子が発芽して、ある程度まで生育した後でないと発生しないこと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという

報告はされていないことから、本スタック系統ワタの有害物質の産生性に関する試験は行っていない。

本スタック系統ワタには、CP4 EPSPS蛋白質とワタ281及びワタ3006の作出において選抜マーカーとして使用したPAT蛋白質を産生する性質が付与されている。しかし、CP4 EPSPS及びPAT蛋白質は有害物質としては知られておらず、また、CP4 EPSPS及びPAT蛋白質が他の代謝系に関与するとは考えられていない。

また、本スタック系統ワタには、チョウ目害虫抵抗性を示す改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質を産生する性質が付与されている。本スタック系統ワタの花粉により非標的チョウ目昆虫種への影響が懸念されるが、仮に生育したとしてもワタの花粉は比較的重く、粘着性があるため飛散する可能性は少ない。したがって、ワタを摂食しない非標的チョウ目昆虫種が本スタック系統ワタの花粉に曝露される可能性は低いと考えられる。

以上のことより、本スタック系統ワタにおいて、有害物質の産生性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本スタック系統ワタと交雑可能な近縁野生種は我が国には存在しないことから、本スタック系統ワタの交雑性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本スタック系統ワタの交雑性に起因する生物多様性への影響が生ずるおそれはないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

本スタック系統ワタは、ワタ281/3006とワタ1445を交雑により掛け合わせ、ワタ281/3006とワタ1445の特性を併せ持つものを選抜することで作出された。

第一の2 - (6)で述べたとおり、

改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質は酵素活性を持たず、宿主の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられること、

改変型Cry1F蛋白質と改変型Cry1Ac蛋白質は米国において行われた防除効果試験により相互に作用を及ぼさないことが明らかにされていること、

PAT及びCP4 EPSPS蛋白質はそれぞれ基質特異性が高いこと、

生物検定により本スタック系統ワタとワタ281/3006との間でチョウ目害虫抵抗性に差がないことが確認されていること、グリホサート耐性試験及びPAT蛋白質の発現量の測定により除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性が発現していることが確認されていること

から、これらの蛋白質が付与する形質が相互に影響を受ける可能性は考えにくく、親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられる。

以上から、本スタック系統ワタの生物多様性影響の評価は、ワタ281/3006とワタ1445の諸形質を個別に調査した結果を用いて行った。

競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、種子の生産量・脱粒性・休眠性・発芽率について比較検討した。その結果、ワタ281/3006、ワタ1445ともにいずれの項目においても競合における優位性に影響を及ぼすと考えられるような差異は認められなかった。

本スタック系統ワタはチョウ目害虫抵抗性及びグリホサート耐性、また選抜マーカーとして使用したPAT蛋白質の発現によるグルホシネート耐性を併せ持つが、これらは競合における優位性を高めるほどの形質の変化ではなく、またそれぞれの形質が互いに影響し合うとは考えにくい。したがって、これらの形質を全て併せ持ったとしても、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

我が国においては、本スタック系統ワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培自体も殆ど行われていない。したがって、本スタック系統ワタが有害物質を産生して我が国の

生物多様性に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは、自生化して他の植物を駆逐する場合が想定された。しかし、根や地上部からの有害物質に関しては、こぼれ落ちた種子が発芽して、ある程度まで生育した後でないと発生しないこと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていないことから、本スタック系統ワタの有害物質の産生性に関する試験は行っていない。

本スタック系統ワタの中には改変型Cry1F及び改変型Cry1Ac蛋白質が発現しているため、本スタック系統ワタの花粉による非標的チョウ目昆虫種への影響が懸念されるが、仮に生育したとしてもワタの花粉は比較的重く、粘着性があるため飛散する可能性が低く、ワタを直接摂食しない非標的昆虫種が本スタック系統ワタの花粉に曝露される可能性は低いと判断された。また、本スタック系統ワタには、CP4 EPSPS蛋白質とワタ281及びワタ3006の作出において選抜マーカーとして使用したPAT蛋白質を産生する性質が付与されている。しかし、CP4 EPSPS及びPAT蛋白質は有害物質としては知られておらず、また、CP4 EPSPS及びPAT蛋白質が他の代謝系に関与するとは考えられていないため、本スタック系統が新たに有害物質を産生し、自然環境下において野生動植物等に影響を及ぼすとは考えられない。

以上のことから、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

我が国において、本スタック系統ワタが属する *Gossypium hirsutum* と交雑可能な近縁野生種は我が国には自生していない。したがって、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

よって、総合的評価として、本スタック系統ワタを、第一種使用規程に従って使用した場合、我が国の生物多様性へ影響を生ずるおそれはないと判断した。

参 考 文 献

- 1 Barker RF, Idler KB, Thompson DV, Kemp JD (1983) Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* **2**, 335-350.
- 2 Christensen AH, Sharrock RA, Quail PH (1992) Maize polyubiquitin genes: Structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Molecular Biology* **18**, 675-689.
- 3 Cotton Australia. (2003). 'How to Grow Cotton'.
- 4 Cotton Australia. (2005). 'World Cotton History'
- 5 Eastick R (2002) The Potential weediness of transgenic cotton in Northern Australia. CSIRO.
- 6 Eckes P, Vajtewaal B, Donn G (1989) Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants. *Journal of Cell Biochemistry* **13D**, 334.
- 7 Ellis JG, Llewellyn DJ, Walker JC, Dennis ES, Peacock WJ (1987) The OCS element: a 16 base pair palindrome essential for activity of the octopine synthase enhancer. *EMBO J.* **6**, 3203-3208.
- 8 FAO (2004) 'FAOSTAT Database., Food Balance Sheet.'
- 9 Fryxell, P.A. 1984. 'Taxonomy and Germplasm resources.' Cotton, Agronomy No. 24, p 27-57, Soil Science Society of America, Inc. Winsconsin. USA.
- 10 Govila, O.P. and Rao, C.H. (1969). Studies on the in vitro germination and storage of cotton pollen. *Journal of Palynology*. Vol 5 pp 37-41.
- 11 Green SB and Embrey SK (2005) Molecular Characterization of WideStrike X Round-up Ready Cotton' (Dow AgroSciences LLC, Indianapolis, Indiana) 社外秘情報につき非公開
- 12 Huckaba RM, Braxton LB, Willrich MM, Richburg JS, Lassiter RB, Haygood RA, Langston VB, Richardson JM, Haile FJ, Pellow JW, Mueller JP. Thompson GD (2004) 'WideStrike Insect Protection against Heliothine Insects.' (Dow Agrosciences LLC, Indianapolis, Indiana) 社外秘情報につき非公開

- 13 Lee, J.A., 1984. Cotton, Soil Science Society of America, Inc., Agronomy Series No. 24. pp.1-25. Univ. of Wisconsin Press; Kobel, R.J. and Lewis, C.F, eds.
- 14 Myer RO and McDowell LR (2003) Potential for gossypol toxicity when feeding whole cottonseed to beef cattle. AN130, Animal Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Science, University of Florida.
- 15 National Cotton Council. (2005). Cotton Export Data. www.cotton.org.
- 16 OECD (1999) 'Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.'
- 17 OECD (2004) 'Consensus Document on compositional considerations for new varieties of Cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): Key food and feed nutrients and Anti-nutrients.'
- 18 Office of the Gene Technology Regulator (2002) 'The biology and ecology of cotton (*Gossypium hirsutum*) in Australia.' (OGTR, Canberra, Australia)
- 19 Prietro-Samsónov DL, *et al.* (1997) 'Bacillus thuringiensis: from biodiversity to biotechnology.' *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **19**. 202-219.
- 20 Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R. and Dean, D. H., 1998. *Bacillus thuringiensis* and its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, pp. 775-806
- 21 Umbeck, P. F.; Barton, K. A.; Nordheim, E. V.; McCarty, J. C.; Parrott, W. L.; Jenkins, J. N. (1991). Degree of pollen dispersal by insects from a field test of genetically engineered cotton. *J. Econ. Entomol.* **84**: 1943-1950.
- 22 Waddle, B.A..1984. 'Crop Growing Practices', Cotton, Agronomy No. 24, p 233-263, Soil Science Society of America, Inc. Winsconsin. USA.
- 23 学研学習事典データベース (1999).
- 24 財務省 (2005) 「輸入統計」 <http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm>.
- 25 農学大事典 訂正追補版 野口弥吉 監修. 1977 株式会社 養賢堂発行.

緊急措置計画書（食用、飼料用に供する場合）

平成17年11月25日

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 モンティ・ベイヤー
住所 東京都品川区東品川2丁目2番24号

第一種使用規程の承認を申請しているチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性及び除草剤グリホサート耐性ワタ(*cry1F*, *cry1Ac*, *pat*, *cp4 epsps*, *Gossypium hirsutum* L.) (281 × 3006 × 1445, OECD UI : DAS-24236-5 × DAS-21023-5 × MON-01445-2) (以下、本スタック系統ワタ)について、第一種使用規程に従った使用が承認された場合においても、今後、生物多様性影響が生ずるおそれがあると、科学的根拠に基づき立証された場合には、当該影響を効果的に防止するため、以下の措置をとることとする。

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

ダウ・ケミカル日本株式会社内に、緊急措置に適切に対応するための危機対策本部を速やかに設置する。危機対策本部は、代表取締役を本部長とし、広報部、業務部、登録部の部門長から構成される。同時に、危機対策本部並びに本スタック系統ワタの開発社である米国ダウ・アグロサイエンス社との円滑な連絡を確保するための連絡窓口を設置し、登録部長が責任者となる。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、米国ダウ・アグロサイエンス社と連絡を取り、本スタック系統ワタの第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法

米国ダウ・アグロサイエンス社は、販売した種子の購入者及び穀物取扱い業者、ワタの栽培者が加入する団体に対して、広く情報を提供するための連絡体制を保有している。したがって、今後、本スタック系統ワタが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的根拠に基づき立証された場合には、これらの連絡体制を使って、関係各者と連絡を取る。

また、必要に応じて、日本国内の主要3紙並びに、ダウ・ケミカル日本株式会社のホームページ上に、本件について通知するための記事を掲載する。

4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を取り、その使用等を継続するための具体的な措置の内容

今後、本スタック系統ワタが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的根拠に基づき立証された場合には、弊社は、米国ダウ・アグロサイエンス社とともに、日本向けに輸出している穀物取扱い業者及び種子取扱い業者に対して不活化及び拡散防止措置を講じるように通知する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

科学的根拠に基づき、本スタック系統ワタが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると認められた場合には、弊社は、速やかに農林水産省農産安全管理課及び環境省野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための体制及び連絡窓口を報告する。

以上

添付資料の一覧

添付資料 1 : 本スタックシステムワタのサザンプロット分析
(社外秘情報につき非公開)